Dall Bordoni

# NUOVO PROCESSO DI CONSERVAZIONE

## DELLE SEZIONI MICROSCOPICHE

1447

A four

**Comunicazione fatta all'Accademia di Medicina dal Prof. GIACOMINI.**

# NUOVO PROCESSO DI CONSERVAZIONE

## DELLE SEZIONI MICROSCOPICHE (1)

*Comunicazione fatta all'Accademia di Medicina dal prof.* GIACOMINI.

I grandi progressi che si vanno attuando nello studio della intima costituzione degli organi, riguardano in principal modo l'azione dei diversi reagenti sugli elementi e sulle parti costitutive di essi, cercando con ogni sorta di tinture di renderli il più possibile evidenti. E le colorazioni oggidì proposte sono così numerose, e così svariate, che l'anatomico che desiderasse tutte sperimentarle ed adoperarle per le sue ricerche, ridurrebbe il suo laboratorio ad una tintoria, e la massima parte del suo tempo sarebbe impegnata alla preparazione di queste sostanze.

Tutto ciò dimostra che l'attenzione degli studiosi è oggidì intieramente rivolta a trovar metodi nuovi di eseguire preparazioni, e che è troppo trascurata la parte riguardante la conservazione dei preparati così eseguiti. Egli è ben vero che i pochi metodi di conservazione che noi possediamo hanno ricevuto la sanzione dell'esperienza e soddisfano a tutte le esigenze scientifiche; ma è pur vero, che per la loro delicatezza e complicazione, i preparati difficilmente possono uscire dalle mani di chi li ha eseguiti, per diffondersi fra coloro che pur non occupandosi di scienza pura, sentono tuttavia il bisogno di apprendere direttamente la costituzione dei diversi organi, e gli avanzamenti che si vanno facendo nello studio di essi, sia dal lato dell'anatomia normale come da quello dell'anatomia patologica.

E quando uno desidera conoscere o dimostrare ad una numerosa scolaresca la forma, i rapporti, la struttura di una data parte dell'encefalo, prendiamo, ad es., i gangli cerebrali, non importa che il preparato

---

(1) La descrizione di questo processo, unitamente ai preparati fu comunicata alla Sezione d'Anatomia e Fisiologia del Congresso medico di Perugia, in seduta 17 settembre 1885.

sia stato eseguito con questo o quest'altro metodo, che sia colorito col carmino, con l'ematossilina o con i sali d'oro o d'argento, che sia conservato a secco o per via umida, l'essenziale per lui si è che esso dimostri in modo chiaro ed esatto la cosa che desidera apprendere, che sia facile ad aversi, che possa essere esaminato in qualunque circostanza, e che infine non abbisogni di speciali cure per essère convenientemente conservato e maneggiato.

Ebbene nell'es. citato dei gangli cerebrali, noi troviamo che non solo individui, ma pochissimi istituti anatomici posseggono preparazioni tali di questa regione dell'encefalo, da poter essere tosto dimostrata in tutta la sua estensione ed in tutti i suoi particolari, e servire di guida all'anatomico ed al patologo nella soluzione di questioni che possono sorgere dallo studio di casi speciali. E ciò proviene non tanto da difficoltà nello eseguire queste preparazioni, quanto piuttosto dal metodo di conservazione, il quale, benchè sia il migliore che noi possediamo e sia difficile a sostituirsi per certi scopi speciali, è tuttavia non troppo adatto per rendere facile un esame, e questo deve essere fatto nel laboratorio con certe cautele ed opportuni apparecchi.

Tuttociò, come si comprende facilmente, costituisce una lacuna nei metodi di conservazione, lacuna, la quale se non riguarda propriamente la scienza pura, interessa però la sua diffusione, la sua volgarizzazione, che è appunto lo scopo principale che si propone chi è addetto all'insegnamento. E se questa volgarizzazione si ottiene non colle minute e lunghe descrizioni, ma mettendo sott'occhio le cose nelle condizioni naturali, ciò oltre allo sviluppare lo spirito di osservazione, rende le deduzioni più sicure e più parche. E se tutto ciò noi possiamo fare al di fuori del laboratorio, in qualunque momento in cui uno l'abbisogna, nessuno potrà negare che così operando si ottenga un reale vantaggio ed un vero progresso.

Già da qualche tempo io mi occupava del problema di rendere più facili e più maneggiabili le sezioni microscopiche, studiando un nuovo processo di conservazione delle medesime. Devo però aggiungere che non erano solamente le considerazioni più sopra riferite che mi indussero a queste ricerche, ma ancora la questione economica. Lavorando in special modo sul sistema nervoso centrale, e volendo ottenere serie continue di sezioni microscopiche fatte nelle principali direzioni delle diverse parti dell'encefalo, la prima difficoltà che si incontra si è di avere una quantità corrispondente di vetri portaoggetti e copraoggetti, il che importa una spesa non indifferente. Ottenuto questo si tratta di collocare convenientemente questi preparati onde non abbiano a subire avarie nel mentre la gomma d'Ammar si va lentamente essiccando.

E malgrado io mi trovi in condizioni favorevoli, potendo disporre di oltre 100 metri quadrati di superficie in armadi appositamente costrutti per questo scopo, tuttavia lo spazio in questi ultimi tempi era divenuto così scarso, che non avrei più potuto collocare una serie continua di sezioni di una parte qualunque dell'encefalo. Il cercare quindi un nuovo metodo di conservazione delle sezioni microscopiche del cervello era per me divenuta una necessità assoluta, se voleva continuare nei miei studi, senza incorrere in forti spese. Presento ora i risultati delle mie ricerche, colla speranza che essi incontreranno il favore degli anatomici.

Per ottenere il duplice scopo che mi era proposto, la mia attenzione doveva essere rivolta ai vetri portaoggetti e copraoggetti, che costituivano appunto l'ostacolo principale all'attuazione della mia idea, cercando di sostituirli con altra sostanza più facile ad aversi e più comoda a maneggiarsi, oppure abolendoli completamente.

Quando io esaminava le lamine di gelatina che ci vengono dal commercio, e specialmente quelle per scopi artistici più regolari, ne considerava la perfetta trasparenza come vetro, la superficie regolarmente piana, la facilità con cui si lasciano maneggiare senza subire guasti, a me sorrideva l'idea di poter racchiudere nell'interno di queste lamine, sezioni microscopiche del sistema nervoso centrale, o di un altro organo, mettendo in tal modo i preparati delicatissimi in condizioni da poter essere facilmente conservati e trasportati.

Una soluzione di gelatina e glicerina è da me adoperata frequentemente per includere larghe sezioni del sistema nervoso calorite o no, ed osservava come in questa mescolanza il preparato si conservasse molto bene, la trasparenza fosse sufficiente per distinguere microscopicamente le più minute parti, ed il distacco fra la sostanza bianca e grigia molto pronunciato. Per cui queste sezioni così conservate mi erano di grande utilità per interpretare certe particolarità che la troppa trasparenza della gomma d'Ammar rendeva meno manifeste in quelle trattate col metodo classico. Tale circostanza mi fece adottare come precetto, che posso per il molto vantaggio raccomandare ad altri, di racchiudere una o due sezioni di ogni gruppo, componente una lunga serie, nella soluzione di glicerina e gelatina.

Ma se così facendo io aveva una economia di tempo e di materiale, e poteva, subito dopo che la gelatina si era consolidata, maneggiare il preparato senza tema di danneggiarlo, doveva però sempre far uso del portaoggetti e copraoggetti.

Questi preparati però mi dimostrarono come le larghe sezioni, in ge-

*

latina si conservassero molte bene, si trovassero in un mezzo molto conveniente e mi spinsero a fare altri tentativi. Misi allora alcune sezioni in gelatina pura, senza glicerina che impedisse l'evaporazione, lasciai così il preparato esposto all'aria senza vetro coprioggetto. Dopo uno, due o tre giorni a seconda dello spessore dello strato di gelatina e dell'ambiente, la superficie si presentava completamente asciutta e la sezione interamente distesa e fissata sul portaoggetti senza aver subìto la benchè minima alterazione.

Ma il fatto che più mi colpiva si era questo, che mentre la gelatina andava essiccandosi e la evaporazione si estendeva anche alla sezione, questa si andava sempre più rischiarando, per modo che allorquando la essiccazione era completa e nessun punto del preparato era rimasto allo scoperto, essa si presentava così trasparente come se fosse stata trattata cogli ordinari reagenti che servono per tale scopo, olio di garofani, terebentina, ecc.

Questo fatto era per me di grande interesse, perchè mi dimostrava che mentre l'acqua del preparato si andava evaporando, essa veniva sostituita dalla gelatina, e così l'indice di rifrazione rendendosi eguale, la sezione diveniva trasparente. E nei punti in cui questa era rimasta scoperta da gelatina o dove essa si presentava più robusta, e l'evaporazione abbastanza rapida da non permettere alla gelatina di immedesimarsi col preparato, in questi punti la sezione subiva alterazioni che andrò più tardi indicando.

Queste prime esperienze io le faceva su sezioni di un intero encefalo umano, non convenientemente indurito alla regione dei gangli cerebrali, e che era rimasto per qualche tempo in una soluzione al 5 per 1000 di bicloruro di mercurio, soluzione che io adopero per dare alla sostanza nervosa una maggiore elasticità, siccome ho indicato in altro lavoro (Fascia dentata dell'Hippocampo, 1883, pag. 66); il soggiorno però essendo stato maggiore di quanto io prevedeva, il bicloruro di mercurio fece sentire la sua azione su tutta la corteccia cerebrale, ottenendo così la colorazione nera degli elementi nervosi e dei loro prolungamenti, siccome venne descritta dal Golgi.

Queste sezioni trattate col processo della gelatina dimostrarono la colorazione nera in tutta la sua evidenza, i più fini prolungamenti potevano essere seguiti per lunghissimo tratto e l'intreccio delle fibre in alcuni punti era veramente inestricabile.

Questi risultati erano molto soddisfacenti e segnavano un gran passo verso lo scopo che mi proponeva. Ed anche quando gli ulteriori tentativi non avessero corrisposto alle mie speranze, era però sempre un fatto di non lieve importanza di aver trovato un nuovo mezzo di conservazione

delle sezioni del sistema nervoso, senza che esse avessero risentito l'azione di alcun reagente, facendo economia di tempo e di materiale e rendendo i preparati in poco tempo utilizzabili per qualunque dimostrazione, senza pericolo d'essere alterati o guasti.

Ben essiccato lo strato di gelatina unitamente al preparato inclusovi, si trattava ora di distaccarlo dal vetro portaoggetti onde eliminare questo ed avere solo la lamella di gelatina libera, ben distesa senza grinze e pieghe. E la cosa non fu troppo difficile. La gelatina essiccata sopra una lastra di vetro fa corpo con essa e talora non si riesce a distaccarla senza una certa difficoltà. Però se si ha l'avvertenza di rendere la superficie del vetro, prima che su essa venga distesa la gelatina, leggermente untuosa, o meglio spalmandola con bile di bue, come si pratica nel commercio per avere le lamine di gelatina usate e conosciute col nome di carta-vetro carta-gelatina per ricavar disegni, in allora il distacco si opera con somma facilità e si ottengono così lamine regolari e piane come fogli di carta, elastiche, solide e perfettamente trasparenti.

La possibilità di aver preparati microscopici senza vetro coprioggetti e portaoggetti era adunque ridotta in fatto. Si trattava solo di studiare il modo più conveniente e più sicuro, e di vedere fin dove esso potesse essere utilmente applicato.

Però fin dai primi saggi che aveva ottenuto, notai tosto alcuni inconvenienti. La superficie del preparato che era applicata sul vetro portaoggetti, riusciva liscia e regolare, mentre quella libera leggermente granulosa, senza però che questo fatto disturbasse l'osservazione. Ambedue poi le superficie al contatto dell'umidità e del calor delle dita di chi l'esaminava, ricevevano l'impronta delle linee papillari ed assumevano un aspetto più opaco. Di più la gelatina malgrado essiccata è poco resistente, si lascia facilmente intaccare al contatto dei corpi duri, quindi dopo un po' di tempo si producono stirature dirette in diverso senso, le quali deturpano il preparato e lo rendono meno adatto a più minute osservazioni. Inoltre si sa esser la gelatina avida dell'umidità, quindi avendo delle larghe superficie questa facilmente assorbiva quella dell'atmosfera, e il preparato si contorce e deforma. Egli è bensì vero che usando qualche precauzione tutti questi inconvenienti si sarebbero potuti evitare, ma per lo scopo cui destinava questi preparati tutti questi piccoli inconvenienti costituivano dei reali pericoli che li mettevano in una condizione d'inferiorità.

Evidentemente fino ad ora io aveva trovato un nuovo mezzo di inclusione delle sezioni microscopiche, ma non aveva trovato ancora il modo di sostituire i vetri porta e copraoggetti.

Per proteggere la gelatina dagli inconvenienti accennati, conveniva

che essa fosse racchiusa fra due strati di qualche sostanza trasparente e refrattaria alla umidità ed abbastanza resistente al contatto dei corpi duri. Il collodion fu quello che si presentò per primo alla mente mia; e sapendo che collodion e gelatina sono frequentemente usati in fotografia, applicati sul vetro, ricorsi ad un intelligente di quest'arte, e così potei tosto apprendere il modo d'interporre fra il portaoggetti e la gelatina un sottile strato di collodion. (Devo esser riconoscente al distinto pittore cav. Luigi Cantù. Egli, che per mezzo del disegno collaborò a quasi tutti i lavori che ho pubblicato fino ad oggi, volle colla sua esperienza facilitare ed abbreviare questa fase delle mie ricerche).

Questo stato di collodion aveva il duplice vantaggio di rendere più facile e sicura la separazione del preparato dal vetro, e dopo funzionava da vetro portaoggetti. Più tardi io aggiunsi un secondo strato di collodion sulla superficie libera della preparazione alloraquando essa era ben essiccata ed ancora applicata sul vetro, il quale, faceva le veci di copraoggetti, e così la preparazione era compiuta nel modo il più soddisfacente, superando tutti i miei desideri.

I preparati che io presento sono quindi costituiti da tre strati, due di collodion sulle due superficie ed un terzo, interposto ad essi costituito dalla gelatina che comprende la sezione microscopica. I preparati sono resistenti, flessibili, eleganti, trasparentissimi, facili a conservarsi ed a trasportarsi; e l'intera serie di sezioni dell'encefalo, o di una parte di esso che col metodo classico occupava un grandissimo spazio, col nuovo processo noi possiamo conservarla nel nostro portafoglio od in un piccolo album. Questo processo poi permette di esporre, maneggiare e contemplare con agio i preparati per studiare le parti costitutive di essi.

Col mio processo di conservazione del cervello io aveva già messo in grado il medico di aver sul suo tavolo di lavoro uno o più cervelli per studiare la conformazione di così intricato organo, e l'anatomico di fare raccolte di cervelli umani e d'animali che sono di grandissimo vantaggio per lo studio comparativo di esso; col mio nuovo procedimento di preparare e conservare le sezioni microscopiche il medico potrà d'ora in avanti avere non sul suo tavolo, ma nel suo libro di studio una o più sezioni delle principali regioni dell'encefalo che gli saranno di utile e preziosa guida per ben apprendere la topografia, i rapporti, le connessioni e la costituzione delle diverse parti; e l'anatomico invece potrà con grande facilità ed economia preparare e conservare serie diverse di sezioni dell'encefalo assolutamente indispensabili per chi voglia fare un esame attento dell'organo o dimostrare ad una numerosa scolaresca le cose che egli va illustrando nelle sue lezioni.

Io voglio sperare che questo nuovo processo se non ne verrà esagerata la portata, se sarà mantenuto nei limiti in cui io lo propongo, contribuirà potentemente come il primo processo a precisare e diffondere la conoscenza dell'intima costituzione di parti che fino ad ora erano inaccessibili alla grandissima maggioranza degli studiosi, e riservata a pochi privilegiati.

Intanto che io andava facendo questi studi, io cercava nella letteratura se qualche cosa fosse già stato tentato a questo riguardo. Ma non trovai nulla. Solo in un lavoro di Hamilton intitolato: *On a method of demonstrating the connections of the brain in health and disease*, e pubblicato nel vol. VI del Brain, 1884, esiste la descrizione di un metodo che ricorda il primo stadio delle mie ricerche. Lo scopo di Hamilton si è di dimostrare il decorso delle fibre e le loro relazioni con differenti centri grigi. Egli distende con una pipetta uno strato uniforme di gelatina liquida sopra un vetro portaoggetti senza previa preparazione. Quando è divenuto solido si toglie per mezzo di esso una sezione direttamente dalla vasca del microtomo, e colla pipetta si distende su di essa un nuovo strato di gelatina. Si lascia asciugare per alcuni giorni; quando la gelatina è divenuta secca, per mezzo di un pennello si bagna la superficie libera con il *liquor potassæ* della farmacopea britannica, si lascia asciugare per 24 ore, poi si distacca dal vetro portaoggetti.

La gelatina secca trattata col *liquor potassæ* acquista tali proprietà igroscopiche che messa nell'acqua si gonfia ed aumenta del doppio della sua primitiva grandezza, e così succede del preparato entro chiusovi. Ottenuto questo ingrandimento, il quale, secondo l'autore, rende ben evidenti i fasci di fibre della sostanza bianca, la preparazione è raccolta su di un vetro portaoggetti inchiusa in una soluzione di gelatina e glicerina, e quindi coperta dal copraoggetti, e così si conservano indefinitivamente i preparati. Appena conosciuto questo metodo ho ottenuto alcune preparazioni, le quali non mi dimostrarono quei vantaggi indicati dall'autore, e certamente non compensano le lunghe cure che si impiegano per ottenerle.

Premesse queste considerazioni generali le quali dimostrano il concetto che mi guidava in queste ricerche e la via che ho seguìto per giungere al risultato ultimo, che è quello che presento all'Accademia, vengo ora alla descrizione del processo ed alle applicazioni che esso può avere.

### *Descrizione del processo.*

Il metodo che sto per descrivere si allontana talmente dagli ordinari procedimenti della tecnica microscopica, che sono costretto ad entrare

in minuti particolari, la conoscenza dei quali è di assoluta necessità se si desiderano avere eccellenti preparati, evitando una serie di inconvenienti che possono compromettere l'esito finale.

Suppongo d'avere pronte per essere chiuse una serie di sezioni di una parte o di tutto l'encefalo umano. Diremo più tardi quale processo d'indurimento convenga meglio al nostro scopo. Queste sezioni possono essere colorite col carminio, col picrocarminio, colla ematossilina o con altra sostanza, ben lavate sono messe in acqua. Se si desidera preparare sezioni senza previa coloritura, queste possono essere prese direttamente dalla vasca del microtomo appena sono eseguite.

Si scelgono allora altrettante lastre di vetro quante sono le sezioni; queste lastre devono avere una dimensione un po' superiore al preparato che dovranno sostenere, onde lasciar un margine sufficiente attorno al medesimo quando esso verrà distaccato dal vetro, margine il quale potrà essere modificato a piacimento.

Questi vetri devono aver subito una preventiva pulitura coi sistemi indicati in tutti i trattati di tecnica istologica onde far scomparire ogni macchia e traccia di untuosità. Prima però d'adoperarli per il nostro scopo devono ancora essere ripuliti sopra una delle faccie, su quella cioè sulla quale dovrà essere disteso il collodion. In quèsta ripulitura si eviterà di toccare colle dita la superficie che deve essere collodionata. Per i vetri di piccole dimensioni ciò è abbastanza facile ad ottenersi, ma per quelli che devono essere usati per le sezioni dell'encefalo, questa operazione si compie con maggiore facilità e sicurezza adoperando una piccola tavoletta di legno in uso presso i fotografi.

La ripulitura deve essere operata strofinando la superficie con un pezzo di tela o di pelle di camoscio finchè l'alito condensato su di essa la copra uniformemente, scomparendo prontamente. In allora con un batuffolo di cotone si trasporta sulla superficie un po' di polvere di talco e si distende con ripetute fregazioni su di essa.

Tutte queste precauzioni sono rese necessarie per facilitare la separazione dello strato di collodion, che funziona da portaoggetti, dal vetro. Se non si usa il massimo rigore in questo primo atto del processo, si avranno più tardi a lamentare imperfezioni e guasti irreparabili.

I vetri così preparati vengono disposti in serie pronti per essere *collodionati*. Siccome occorre soventi di avere a disposizione una grande quantità di vetri, perchè questi non occupino grande spazio, siano facili a trasportarsi e si mantengano sempre puliti, torna molto comodo il disporli sopra colatoi di grandezza diversa in rapporto colle dimensioni dei vetri, che io adopero già da molto tempo e con grande vantaggio nei

diversi atti del processo classico, avvertendo però di indicare la faccia del vetro che ha subìto la ripulitura.

Ai vetri destinati per piccole sezioni si potrebbe risparmiare la pulitura colla polvere di talco, che ha l'inconveniente di aumentare le sostanze eterogenee della gelatina nella quale verranno immersi; ma per le grandi sezioni o quando si vogliono comprendere diverse sezioni sulla medesima lastra, non dovrà essere omessa questa pratica che rende più sicuro il risultato.

Così disposte le cose si passa a distendere sui vetri uno strato di collodion. Per questo scopo il collodion del commercio è convenientissimo. È d'uopo assicurarsi prima che esso non sia troppo denso, aggiungendovi una certa quantità di etere e d'alcool assoluto. Questo ritarda l'evaporazione dell'etere e permette di distendere uno strato uniforme sopra la superficie del vetro.

La *collodionatura* dei vetri, essendo una delle prime operazioni che eseguiscono i fotografi nel processo negativo, e dipendendo da essa in principal modo l'avere immagini nette e pulite, la questione fu studiata sotto tutti i suoi aspetti e si hanno norme esatte e precise perchè essa riesca perfetta. Io quindi non riporterò qui che la parte che più direttamente ci interessa rimandando ai trattati di fotografia più recenti chi desiderasse più ampi particolari.

Preparati i vetri ed il collodion, si procede nel modo che segue. Col pollice ed indice della mano sinistra si afferra il vetro per l'estremità di un angolo e con un grosso pennello a pelo finissimo si toglie la polvere di talco che fosse ancora rimasta aderente al vetro, ed il pulviscolo che vi fosse caduto accidentalmente. Questa operazione si ripete anche per la faccia inferiore. Poi tenendo il vetro in posizione orizzontale col massimo diametro disposto trasversalmente e l'angolo di sostegno a sinistra ed all'indietro, si versa il collodion, contenuto in una piccola boccetta, cominciando dal punto in cui il vetro è sostenuto, e seguendo il margine trasversale fino all'angolo opposto, in allora si inclina leggermente il vetro in avanti ed in basso, e si fa scorrere lentamente il collodion su tutta la superficie. Quando questa è tutta coperta si tiene un momento orizzontale e poi si inclina verso l'angolo opposto a quello di sostegno, e l'eccesso del collodion vien raccolto in una seconda boccetta a larga apertura, o meglio munita di un piccolo imbuto sul quale si trovi del cotone vetro onde il collodion subisca una specie di filtrazione. Noi potremo dare allo strato di collodion maggiore o minor spessore tenendo il vetro in posizione orizzontale più o meno lungamente prima di lasciar colare l'eccesso.

I piccoli vetri per sostenere sezioni di midollo allungato, ponte e

peduncoli cerebrali sono facili a *collodionare;* per gli altri destinati per le sezioni dell'intero encefalo occorre una certa abilità che però si acquista tosto colla pratica.

Il vetro così preparato è deposto sopra un piano orizzontale attendendo che l'etere e l'alcool siano completamente evaporati, il che si opera in pochi minuti.

Dovendo preparare piccole sezioni si possono *collodionare* uno dopo l'altro 4 o 6 vetri, ma per le grandi sezioni è più conveniente di limitarsi ad uno o due, perchè talora si deve impiegare un tempo relativamente lungo per ben disporre le larghe sezioni sul vetro *collodionato* nel bagno di gelatina.

Quando il collodion disteso sul vetro toccato sull'angolo dal quale sgocciolò l'eccesso e dove lo strato è più robusto, riceve l'impronta dell'unghia, esso è pronto per essere trasportato nel bagno di gelatina.

Prima di stendere il collodion sui vetri conviene che sia apparecchiata una soluzione di gelatina. Questa soluzione deve essere dall'8 al 10 per 100. Le lamine di gelatina che vanno in commercio col nome di *marca d'oro* sono quelle che io ho adoperato nelle mie ricerche e mi diedero buoni risultati. Pesata la quantità di gelatina che si desidera usare, questa è minutamente tagliata e messa in un vaso con metà dell'acqua distillata colla quale si deve fare la soluzione.

Dopo un'ora la gelatina ha completamente assorbita l'acqua, in allora vien riscaldata lentamente a bagno maria aggiungendovi il resto dell'acqua distillata, finchè essa sia completamente sciolta. Subito dopo vien filtrata a caldo nell'ordinario modo, e si ha così un liquido molto trasparente, ma non chimicamente puro come si vedrà più avanti.

Queste ricerche io le faceva in uno dei mesi più caldi dell'anno (principio di agosto) e nei liquidi dove soggiornavano le sezioni per essere debitamente colorite, facilmente si sviluppavano delle muffe, le quali certamente avrebbero trovato un terreno propizio nella gelatina per propagarsi ed il preparato ne sarebbe stato senza dubbio danneggiato. Per prevenire questo fatto io aveva aggiunto alle prime soluzioni di gelatina un po' di bicloruro di mercurio, in altre dell'acido fenico: ma la soluzione di gelatina coll'aggiunta di queste sostanze perdeva un po' della sua trasparenza, acquistava una colorazione biancastra nel primo caso e rossastra nel secondo, e gli strati essiccati non dimostravano una perfetta lucentezza, ma erano un po' offuscati da una leggera nebulosità.

D'altra parte ho potuto osservare che l'essiccamento del sottile strato di gelatina è abbastanza rapido da rendere impossibile lo sviluppo in esso di microorganismi, e quelli che per avventura fossero stati aderenti

alla sezione, erano arrestati nel loro ulteriore sviluppo dall'essiccamento della gelatina e del preparato. Per questa circostanza io abbandonai l'idea di aggiungere alla soluzione di gelatina sostanze antisettiche e me ne trovai bene.

La soluzione di gelatina deve essere piuttosto abbondante quando si hanno parecchie sezioni da ultimare, potendo occorrere di rinnovare il bagno una o due volte. Essa deve avere la temperatura da 50 a 55 gradi centigradi. A seconda della estensione dei vetri che noi adoperiamo, si useranno vasche di grandezza diversa, nelle quali i vetri dovranno stare comodamente. Avendo una lunga serie di sezioni da conservare è d'uopo che la vasca contenente la soluzione di gelatina sia mantenuta a bagno maria, pressochè alla stessa temperatura, in modo diverso la soluzione si andrebbe raffreddando, le sezioni non avrebbero più un uniforme spessore e l'operazione dovrebbe essere interrotta parecchie volte per riscaldare la soluzione.

Per soddisfare a questo bisogno, io ho fatto costrurre un bagno maria formato di due vasche l'una sovrapposta all'altra, la inferiore più ampia contiene acqua, la quale viene riscaldata per mezzo di una fiamma a gas o a spirito; la vasca superiore più piccola è immersa nella prima, e contiene la soluzione di gelatina. Un termometro posto ai lati ci dà la temperatura dell'acqua del bagno. In questo modo noi possiamo continuare il nostro lavoro per un tempo indefinito. Le dimensioni possono variare, il più piccolo bagno maria che ho fatto costrurre e che uso più frequentemente ha una estensione interna di 20 cm. su 15. Il più grande supera il metro in lunghezza su 65 cm. di larghezza. Quest'ultimo viene adoperato in circostanze speciali delle quali parleremo più tardi.

Versata la soluzione di gelatina nella vasca, in essa viene trasportato il vetro colla superficie rivestita dal collodion rivolta in alto. Appena immerso si scorge come la gelatina scorra sul collodion come su di una superficie untuosa, formando strie e ramificazioni diverse, ma dopo un po' di tempo l'intimità fra il collodion e la gelatina si stabilisce completamente, in allora sollevato un lato del vetro si vede che la gelatina si dispone in modo uniforme sul collodion. Conviene attendere questo momento prima di trasportarvi la sezione, onde evitare gravi inconvenienti.

La sezione vien trasportata nel bagno di gelatina per mezzo di una spatola o di un vetro portaoggetti. Con un piccolo pennello a peli finissimi si fa scorrere sopra il vetro collodionato e questo vien quindi lentamente sollevato in posizione ben orizzontale, per impedire alla sezione di scivolare via, ed estratto dal bagno, si lascia colare, a seconda dello spessore della sezione, più o meno l'eccesso di gelatina che si trova sul

vetro, inclinandolo leggermente e facendo attenzione che la sezione mantenga sempre la sua posizione, e grossolanamente pulito alla superficie inferiore, vien deposto sopra una lastra di vetro ben orizzontale, dove si lascia così essiccare, evitando di sollevar polvere onde essa non si depositi sul preparato.

Onde impedire l'adesione della superficie inferiore del vetro che porta il preparato, e che non può mai essere ben pulita dalla gelatina, col piano di sostegno, conviene smuoverlo appena la gelatina si è consolidata, oppure interporre un foglio di carta il quale così fa corpo col vetro portaoggetti.

Nel trasportare la sezione nel bagno di gelatina, nel condurla e disporla sopra il vetro collodionato e nell'estrarre questo dal bagno, si deve in modo assoluto evitare di toccare la superficie, sulla quale si trova disteso il collodion, con istrumenti resistenti, ad es., aghi o pinze, ecc., poichè nel punto toccato si manifesterebbe tosto un sollevamento ed accartocciamento della sottile lamina di collodion, e se ciò avvenisse, conviene rigettare il vetro e sostituirlo con un altro, in modo diverso la preparazione non riescirebbe soddisfacente. Così pure colle dita non conviene estendersi di troppo sui margini della superficie collodionata nel maneggiare i preparati, potendo questa circostanza accelerare il distacco dello strato di collodion, il che complicherebbe il buon andamento delle successive operazioni.

Quando la sezione è sottile e lo strato di gelatina nel quale essa si trova compresa non è molto robusto, bastano 12 o 18 ore perchè la superficie si presenti asciutta. Se qualche punto della sezione non si trova coperto dalla gelatina, e questo si può facilmente scorgere esaminando il preparato a luce riflessa, converrà distendere sulla superficie un secondo strato di gelatina. E ciò si ottiene non più immergendo tutto il preparato nel bagno di gelatina, ma mettendo il vetro in una posizione inclinata e versando sopra di esso per mezzo di un'ampolla la soluzione di gelatina alla temperatura di 50 gradi e facendola scorrere dal margine superiore all'inferiore finchè tutta la superficie ne resti bagnata. Dopo aver lasciato colare l'eccesso, vien trasportato di nuovo al suo posto. Questo modo di distendere la gelatina sui preparati dove essere ripetuto tante volte quanto è necessario, perchè tutta la superficie della sezione sia ben coperta da gelatina. Questo fatto può anche essere praticato alloraquando si desidera dare maggior robustezza a tutto il preparato. Si deve solo fare attenzione che non si formino bollicine d'aria, le quali rendono irregolare il preparato.

Occorre talora di osservare, in specie nelle grandi sezioni, al principio dell'essiccamento sollevamenti limitati di forma mamillare, increspature

che si manifestano ai margini ed irregolarità diverse, le quali dimostrano come la preparazione non sia completamente distesa sul medesimo piano. Non conviene troppo preoccuparsi di tali fatti, poichè procedendo l'evaporazione della gelatina, questa distende la sezione applicandola strettamente sul piano del vetro e facendo scomparire ogni irregolarità.

Nella stagione calda ed in un ambiente secco l'evaporazione dell'acqua, della gelatina e di quella della sezione procede rapido; uno o due giorni sono sufficienti per l'essiccamento completo anche delle larghe sezioni di tutto l'encefalo e di robusti strati di gelatina. Il preparato sarà perfettamente essiccato, quando la sezione si presenta trasparente in tutta la sua estensione e la superficie della gelatina così resistente da non più ricevere l'impronta dell'unghia.

I preparati in questo stato possono durare indefinitivamente senza alcun'altra manipolazione. E nelle prime prove che ho fatto mi sono precisamente limitato a questo punto. Ma subito dopo ho sentito il bisogno di difendere la superficie di gelatina dal contatto degli agenti esterni, ed ho ottenuto questo distendendo un secondo strato di collodion.

Questa operazione deve essere fatta quando gelatina e sezione sono ben essiccate. È meglio attendere qualche ora di più, che collodionare il preparato ancora un po' umido. Per la smania che io aveva nelle prime esperienze, di vedere il risultato ultimo ho sciupato preparazioni preziose.

Prima di praticare questa seconda *collodionatura* conviene numerare la sezione, e questo si fa scrivendo a fianco della medesima sulla gelatina coll'inchiostro comune, il numero della serie e del gruppo cui essa appartiene, l'epoca in cui fu fatta, l'individuo cui appartiene, e qualunque altra indicazione che negli ordinari preparati microscopici si scrive sopra carta gommata applicata ad una estremità del vetro portaoggetti. Nei nostri preparati invece queste indicazioni essendo segnate sulla gelatina, lo scritto vien coperto dal secondo strato di collodion, quindi chiuso entro il preparato e reso indelebile. Si attende che l'inchiostro sia asciutto e poi si distende il collodion su tutto il preparato.

Questa seconda operazione si eseguisce nel medesimo modo della prima, senza però essere troppo scrupolosi nel seguire i precetti dati per questa. Solamente dobbiamo por mente che lo strato di collodion sia pressochè di eguale spessore di quello disteso sul vetro, onde evitare incurvamenti di tutto il preparato, che avvengono quando viene liberato dal vetro. Bisogna attendere qualche tempo perchè questo secondo strato di collodion sia ben essiccato, e subito dopo si può operare il distacco dal vetro. Per questo scopo con un robusto coltello si tagliano i due strati di collodion e quello di gelatina parallelamente ai margini del vetro ed alla distanza almeno di un centim. da essi, e quindi con un sottile bisturi

si cerca di sollevare il preparato per un angolo finchè esso sia completamente libero.

Quando i preparati sono ben riusciti, mentre si praticano le incisioni l'aria tosto si insinua al disotto, provocando una separazione pronta. Talora però lo strato di collodion per piccoli tratti o per grande estensione non può essere distaccato dal vetro senza produrre lacerazioni, e quando questo fatto succede in corrispondenza della sezione, in allora il preparato è completamente guasto. Quando possiamo prevedere questo inconveniente ed abbiamo sezioni preziose, in allora val meglio lasciarlo a permanenza sul vetro, potendo ancora servire a scopo di studio. Ciò mi succedeva piuttosto frequentemente in principio delle mie ricerche, ma più di rado in seguito.

Altre volte per distaccare il preparato dal vetro conviene impiegare una certa forza, in allora succede che in corrispondenza della sezione si opera un allontanamento esteso o circoscritto del primo strato di collodion dalla faccia inferiore della sezione, si intromette fra essi dell'aria, e questi punti perdono la loro trasparenza, e ci appaiono sotto forma di macchie, che disturbano grandemente l'osservazione macroscopica ed impediscono in modo assoluto la microscopica. Questi inconvenienti dipendono in principal modo dacchè il vetro non era ben pulito e la prima collodionatura non ben eseguita. Questa è la ragione per cui noi dobbiamo usare grande attenzione nel primo tempo di questo procedimento, seguendo scrupolosamente le norme che abbiamo riferito più sopra.

I preparati così isolati e regolarmente numerati si possono conservare in buste o meglio fra due fogli di carta senza alcun danno. Quando il preparato appena liberato dal vetro si incurva su una delle sue faccie, in allora converrà tenerlo per un po' di tempo sotto pressione, ad es. fra i fogli di un libro un po' voluminoso.

Il procedimento che sono andato descrivendo vale per la chiusura e conservazione di singole sezioni. Ma noi possiamo con esso conservare nella medesima lamina di gelatina diverse sezioni, sia che esse susseguano l'una all'altra della medesima parte, sia di parti diverse. E ciò ha grande importanza per le dimostrazioni potendo così fare rapidi confronti, il cui interesse è inutile dimostrare. La parte essenziale del processo è identica alla descritta; solo l'ampiezza del vetro ed il numero delle sezioni, che può variare da 100, 200 a 300, richiedono alcune modificazioni delle quali parlerò ora.

Io ho preso un vetro della lunghezza di 40 centimetri su 30. Non poteva scegliere in principio vetri con dimensioni maggiori, non avendo vasche così grandi da accoglierli quando devono subire il bagno di gela-

tina. Usando ampi vetri conviene che essi siano di qualità superiore, onde le superficie ci presentino piane e regolari. Devono ancora i grandi vetri essere arrotondati ai margini, poichè nelle diverse operazioni cui sono sottoposti dovendo essere maneggiati applicando le dita sui margini, se questi sono taglienti, le dita dell'operatore saranno certamente compromesse.

La pulitura deve essere fatta col massimo rigore, e la *collodionatura* riesce un po' più difficile. È impossibile colla mano sinistra di sostenere il vetro nella posizione voluta. Allora conviene appoggiare il centro della sua faccia inferiore sopra una superficie rotondeggiante e leggermente cedevole, come ad es. un tappo di gomma su un bottiglia a larga base; colla mano sinistra applicata all'angolo sinistro e posteriore, come nel caso dei piccoli vetri, si fa eseguire ad esso tutti i movimenti possibili e l'operazione resta di molto semplificata. È prudenza che un assistente presenzii l'operazione, pronto ad intervenire qualora il vetro tentasse di scivolare. La collodionatura di questi vetri deve farsi più robusta.

Ma la principale modificazione riguarda il bagno di gelatina. È assolutamente impossibile, nell'estrarre dalla vasca di gelatina un vetro contenente diverse sezioni, che queste mantengano la posizione che le avevamo dato nel bagno. Esse non solo si spostano, ma la superficie essendo molto lubrica, scivolano e ricadono nel bagno. Ed i nostri tentativi per ciò impedire non riesciranno ad altro che a danneggiare le sezioni. Se ciò succede per poche sezioni, molto più difficile sarà quando queste superano il centinaio.

Per riescire nel nostro intento invece di togliere il vetro dalla vasca noi dobbiamo levare la soluzione di gelatina procedendo nel seguente modo. Noi dobbiamo innanzi tutto cercare di ottenere che il vetro nella grande vasca non poggi sul fondo, ma sia un po' distante da esso, e sia mantenuto in una posizione perfettamente orizzontale. Questo si raggiunge per mezzo di un sostegno avente ai quattro angoli una vite che innalza ed abbassa tutto l'apparecchio a seconda del bisogno. La soluzione di gelatina deve essere così abbondante da coprire per alcuni centimetri la superficie *collodionata* del vetro, e ciò onde facilitare le manovre che si devono eseguire per condurre nella loro posizione le diverse sezioni. Subito dopo si trasportano nel bagno le sezioni e si dispongono nell'ordine voluto. In allora un assistente per mezzo di una pipetta o di un piccolo sifone applicato sul fondo della vasca comincia ad estrarre la soluzione di gelatina.

Succede talora che nel trasportare una così grande quantità di sezioni dal liquido in cui sono conservate nel bagno di gelatina, si trasportino pure impurità che si vedono galleggiare alla superficie della gelatina,

queste, estraendo la soluzione andrebbero evidentemente a depositarsi alla superficie del preparato, compromettendone la bellezza. Esse devono perciò essere ricondotte verso uno dei margini.

L'estrazione del liquido si fa abbastanza celeremente in principio, ma quando sta per raggiungere la superficie del vetro, si deve andare più a rilento onde impedire correnti che smuoverebbero le sezioni. E se qualcuna di queste tentasse di allontanarsi dal suo posto, vi sarà ricondotta per mezzo del pennello. Procedendo in tal modo si riesce ad estrarre dalla vasca tutta la soluzione di gelatina, lasciandone solo alla superficie del vetro un sottile ed uniforme strato, che è quello che deve contenere ed unire tutte le sezioni. Si attende qualche minuto perchè la gelatina incominci a consolidarsi e fissi così tutte le sezioni nella loro posizione, poi si toglie il vetro dalla vasca, si pulisce la faccia inferiore dalla gelatina rimastavi aderente, si trasporta sopra di un piano orizzontale e quivi si attende che l'evaporazione si compia.

Per questi preparati occorre più di frequente che non negli altri di dover rinnovare più volte lo strato di gelatina, e cio si opera precisamente nel modo che abbiamo indicato per i piccoli preparati. Essiccati, si distende una seconda volta il collodion. Incisi allora sui margini si ottengono lamine molto ampie ed utili, quando la scelta e la disposizione delle sezioni fu convenientemente fatta.

In questi ultimi giorni con questo procedimento ho potuto fissare sopra un vetro della lunghezza di 1 metro su 60 cm. di larghezza circa 200 sezioni tutte del ponte di varolìo dell'encefalo umano. Circostanze speciali non facili a prevedersi in un primo tentativo di questo genere e specialmente lo screpolarsi dello strato di gelatina mi hanno impedito di condurre a termine questo preparato. Ripetendo questa prova, che per il numero delle sezioni, la quantità di gelatina che si richiede, la grandezza degli apparecchi che si adoperano è una delle più complesse operazioni che si praticano nei laboratori di anatomia, ammaestrato dall'esperienza, tutti gli ostacoli saranno superati e così si potrà avere sott'occhio in un'unica lamina qualunque regione dell'encefalo.

Preparati di tal natura convengono principalmente per le sale di dimostrazione e per il Museo; ed in questo caso converrebbe meglio di lasciarli applicati sul vetro; messo questo in posizione verticale e contro la luce riescono di un effetto molto sorprendente ed i minimi particolari possono essere studiati e seguiti nelle diverse sezioni.

Molti degli inconvenienti che si incontrano nell'applicazione di questo processo, li abbiamo indicati nella descrizione del medesimo. Ora accenneremo ad altri, cercando anche qui il modo di porvi riparo. Rimanendo

sempre nel sistema nervoso centrale, con questo processo io ho potuto chiudere e conservare sezioni di un grande spessore, superiore ad 1 millimetro, le quali con gli altri metodi o non è possibile fare o non danno i risultati che si ottengono col nostro. Sezioni molto robuste di tutto d'encefalo, anche imperfettamente colorite, come succede sempre di esse, e che per il loro grande spessore sono molto opache e non possono essere esaminate che a luce riflessa, racchiuse in uno strato di gelatina si rendono trasparentissime mano mano che questa si va essiccando, ed esaminate a luce diretta le connessioni ed i rapporti topografici della sostanza bianca e degli accumuli di sostanza grigia spiccano colla massima evidenza. È questo secondo me un vero pregio del processo che stiamo studiando.

In encefali normali e patologici sovente per quante precauzioni si usino non si può ottenere un indurimento perfetto, per modo da poter fare sezioni da essere esaminate con gli ordinari metodi. E ciò proviene dacchè l'organo fu raccolto in condizioni non troppo propizie o perchè esso fu modificato dal processo patologico. E nessuno ignora, quale interesse si abbia talora a ben determinare la topografia delle diverse parti.

Però per ottenere una perfetta conservazione delle sezioni robuste è d'uopo: 1° che lo strato di gelatina nel quale vien racchiuso il preparato sia proporzionato al suo spessore; 2° che l'essiccazione si faccia lentamente, perchè la gelatina abbia tempo a compenetrare tutto il preparato. Se queste due condizioni non sono osservate, la sezione si altera in qualche punto, rendendosi meno adatta per lo scopo cui è destinata. Questa alterazione consiste in screpolature più o meno ampie e dirette in diverso senso, in guisa da formar reti come avvengono quando si lasciano essiccare simili sezioni sopra di un vetro senza l'aggiunta di alcun liquido. Questi screpoli si riscontrano di preferenza alla periferia delle sezioni nella sostanza corticale degli emisferi cerebrali e cerebellari; e ciò perchè l'essiccamento procedendo dalla periferia al centro, le parti indicate sono le prime a risentire l'azione della mancanza di gelatina e quindi si fendono, le parti centrali resistono per maggior tempo, ma anch'esse finiscono per alterarsi. A ciò può ancora contribuire l'indurimento più considerevole delle parti periferiche, che sono le prime ad essere modificate dagli agenti chimici, e quindi più difficilmente si lasciano penetrare dalla gelatina nell'essiccamento.

Egli è bensì vero che fra i molteplici metodi di studiare il sistema nervoso centrale vi è anche questo di lasciar asciugare una sezione sopra di un vetro portaoggetti, onde si effettuino di proposito tutte queste screpolature. E recentemente von S. Victor Rohon, in un lavoro intitolato *Zur anatomische Untersuchungsmethodik des menschlichen Gehirns* (Sitzungsberichte der Kai. Aka der Wissen Wien, vol. 86, pag. 237) pro-

pone questo modo di preparar le sezioni microscopiche del cervello, come un metodo che avrà grande importanza scientifica, è l'autore che parla, per la questione dell'architettonica cerebrale dell'uomo, potendosi con esso dimostrare le diverse direzioni dei tratti di fibre entro il midollo ed i gangli degli emisferi e ciò nello stato normale e patologico del cervello.

Finchè non esistono altre prove che quelle dateci dall'autore, io e con me probabilmente tutti coloro che hanno lavorato sul sistema nervoso centrale, continueremo a considerar come guasti e da rigettarsi i preparati riesciti in tal modo e cercheremo ogni mezzo perchè questo disastro non avvenga.

Per impedire adunque ai nostri preparati di screpolare convien metterli in un ambiente non troppo secco onde l'evaporazione si compia lentamente, esaminarli frequentemente e stendere sopra di essi nuova gelatina appena la superficie della sezione diviene asciutta, senza tendenza a farsi trasparente, il che dimostra appunto come l'acqua della sezione si evapori senza essere sostituita dalla gelatina. Con tali cautele potremo riescire ad ottenere eccellenti preparati con sezioni molto robuste dell'encefalo umano.

Ma lo screpolarsi non dipende solo dalla robustezza delle sezioni, in questo fatto ha parte grandissima il metodo con cui fu indurito l'organo. Quando questo fu indurito, ovvero ha soggiornato per lungo tempo nell'alcool, in allora le sezioni si lasciano più difficilmente penetrare dalla gelatina, e se non sono sorvegliate colla massima attenzione, se la gelatina non si trova in eccesso e l'evaporazione non si opera con molta lentezza, avvengono alterazioni in diverse parti. Sembra quasi che i tessuti che hanno sentito l'azione dell'alcool agiscano sulla gelatina nel modo stesso con cui agisce l'alcool, coagulandola ed impedendo ad essa di penetrare nei punti dove l'acqua abbandona il preparato per l'evaporazione. E non di rado in queste circostanze si formano delle isole opache le quali resistono a qualunque trattamento. Più frequentemente poi le lamine di gelatina si distaccano dal vetro con una certa difficoltà e si produce la penetrazione dell'aria fra gli strati che compongono la lamina in corrispondenza della sezione.

Quindi le parti conservate od indurite nell'alcool sono meno adatte per essere trattate col nostro processo. Convengono di più quelle che hanno sentito la sola azione del liquido di Muller o meglio ancora le altre che dopo essere state indurite con il bicromato di potassa, sono poi state per qualche tempo in una soluzione di bicloruro di mercurio. Il trattamento colla gelatina ha una singolare predilezione per questi ultimi preparati, forse per la stessa affinità che esiste fra le due sostanze, e

quando la colorazione degli elementi per mezzo del bicloruro è avvenuta, questa si dimostra in tutta la sua bellezza e complicazione. Ed io sono intimamente convinto che il nuovo processo concorrerà a far meglio conoscere ed apprezzare la colorazione nera degli elementi nervosi, che proposta alcuni anni or sono dal Golgi fu accolta con troppa indifferenza dagli studiosi.

Lo screpolarsi delle sezioni è più frequente nei preparati del sistema nervoso centrale, negli altri organi ciò non succede che rarissimamente, qualunque sia stato il metodo d'indurimento usato; ciò è probabilmente in rapporto colle differenze che presenta il tessuto di sostegno.

Un altro inconveniente di questo processo è inerente alla materia che serve per racchiudere i preparati. La gelatina del commercio anche la più pura, quale è quella che noi abbiamo usato, contiene sempre una grandissima quantità di materie estranee, provenienti da diversi sali di calce, d'alluminio, di ferro, ecc. che la rendono impropria ad un attento esame microscopico. Per quanto essa sia passata al filtro con somma cura, il microscopio scopre sempre una grandissima quantità di impurità che si manifestano generalmente sotto forma di punti opachi i quali disturbano molto l'osservazione. Queste impurità sono indifferenti nei grandi preparati del sistema nervoso avendo essi uno scopo specialmente topografico e dovendosi esaminare ad occhio nudo ed a piccolo ingrandimento. Anche nei preparati nei quali si è ottenuta la colorazione nera del Golgi, queste sostanze eterogenee non sono di grave nocumento confondendosi esse coi depositi irregolari che ben sovente si formano nella sezione per l'azione del reagente. Ma nelle piccole sezioni dove l'osservazione deve essere più minuta, esse realmente costituiscono un serio inconveniente, al quale si deve cercare il modo di porre riparo. Ma non è cosa facile ad ottenersi.

Risultati molto soddisfacenti io ho avuto operando come segue. Dopo che la gelatina si è sciolta a bagno maria nella quantità d'acqua voluta, si mescola ad essa dell'albume d'uovo (2 o 3 per mezzo litro di soluzione), convertito in spuma mercè lo sbattimento; si continua a sbattere la mescolanza perchè l'unione si faccia più intima e quindi si porta alla temperatura di 80 a 90 gradi finchè l'albume sia perfettamente coagulato e quindi si filtra il tutto a caldo. In tal modo una gran parte delle sostanze estranee si incorporano col coagulo e restano sul filtro.

La filtrazione semplice della gelatina si deve poi ripetere parecchie volte, quando essa vien usata, per privarla dei corpi stranieri che vengono a mescolarsi ad essa nel mentre i vetri e le sezioni sono trasportati nel bagno.

Siccome alla soluzione di gelatina non viene aggiunta alcuna sostanza antisettica, così di essa si deve preparare la quantità puramente necessaria per i nostri bisogni. In modo diverso il residuo sarebbe presto guasto dallo sviluppo di microorganismi.

L'esame microscopico di piccoli preparati può essere facilmente praticato mettendo tutta la lamina di gelatina fra due vetri fissati alle loro estremità per mezzo di cera, onde evitare l'incurvarsi di essa. In questo modo si possono osservare coi più potenti ingrandimenti, e molto bene possono venir distinti i cilindri d'asse tanto in sezione trasversale, quanto in decorso longitudinale, i gruppi cellulari coi loro prolungamenti quando la colorazione è ben riuscita; ma su questo riguardo essi certamente non possono sostenere il confronto di quelli conservati con il processo classico. Anche in casi patologici, principalmente nelle degenerazioni i preparati dimostrano in modo evidente la lesione, i suoi limiti e rapporti.

Fino ad ora la massima parte delle mie ricerche furono eseguite su sezioni del sistema nervoso centrale. Però ho fatto qualche tentativo su sezioni della cute, di alcune mucose, della prostata, di embrioni, ecc. e con maggior facilità. Anche in queste preparazioni la trasparenza si ottiene perfetta, la topografia si rileva quindi molto bene, e ben distinguibili sono le parti elementari. Ma riguardo al modo con cui gli elementi si conservano e si presentano all'esame nei diversi tessuti, non posso dire nulla finchè non avrò fatto maggiori esperienze. Ad ogni modo però quand'anche gli ulteriori studi dimostrassero poco attuabile questo processo per le ricerche più minute, rimarrà sempre incontestato il suo valore topografico, che può avere anche le sue utili applicazioni nella anatomia patologica.

Ed è solamente sotto questo punto di vista che per ora io presento il nuovo processo attendendo che nuovi studi dimostrino fino a che punto esso può essere spinto. È un difetto proprio di qualunque idea originale che essa sia esagerata nella sua attuazione o da chi la propone o da chi la segue. E ciò contribuisce a menomarne l'importanza. Conoscendo per esperienza quali delusioni seguono sovente nell'applicazione di nuovi metodi per lo studio dell'anatomia, concepiti ed annunziati con liete speranze, io desidero segnare bene i limiti del nuovo processo perchè essi non vengano oltrepassati se non dopo più estesi e maturi studi.

---

Estratto dalla *Gazzetta delle Cliniche*. Anno 1885, 2° Sem., n. 22, 23, 24.

---

**Torino — Stamperia dell'Unione Tip.-Editrice.**